Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. et phil. et med. dent. h. c. A. Gürber

Die Einwirkung von Insulin, Cholin, Muscarin, Pilocarpin und Atropin auf die durch Schilddrüsengaben zu erzwingende Metamorphose von Amphibienlarven sowie über die Wirkung des Jodothyrins auf Amphibienlarven

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

Der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Marburg

vorgelegt von

Werner Geßner
Assistenzarzt aus
Elberfeld

Marburg 1927

Erschienen in der Zeitschrift für Biologie, Band 86, Heft 1, 1927

J. F. LEHMANNS VERLAG, MÜNCHEN SW 4

Angenommen von der Medizinischen Fakultät Marburg

am 11. Dezember 1926.

Referent: Prof. Dr. med. et phil. et med. dent. h. c. Gürber.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit.

Zeitschrift für Biologie Bd. 86.
J. F. Lehmanns Verlag, München 1927.

Die Einwirkung von Insulin, Cholin, Muscarin, Pilocarpin und Atropin auf die durch Schilddrüsengaben zu erzwingende Metamorphose von Amphibienlarven sowie über die Wirkung des Jodothyrins auf Amphibienlarven.

Von Werner Geßner.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.)

(Mit 9 Textfiguren.)

(Der Schriftleitung zugegangen am 10. Januar 1927.)

Inhaltsübersicht.

Seite

Einleitung und Versuchsanordnung 67
A. Hormonale Wirkung:
1. Die Wirkung des Insulins auf mit Thyraden behandelte Amphibienlarven . 70
a) Versuche mit Krötenlarven,
b) Versuche mit Geburtshelferkrötenlarven.
2. Die Wirkung des Azetylcholins auf mit Thyraden behandelte Amphibienlarven 77
B. Neurohormonale Wirkung:
3. Die Wirkung von Muskarin, Pilokarpin und Atropin auf unter Schilddrüsenwirkung stehende Amphibienlarven 78
4. Die Wirkung des Atropins auf nicht unter Schilddrüsenwirkung stehende Amphibienlarven 82
C. Anhang:
5. Die Wirkung von Jodothyrin auf Amphibienlarven 83
Besprechung der Versuchsergebnisse 84
Zusammenfassung 87

Einleitung.

Nach Gudernatsch[1]), Jarisch[2]) und Romeis[3]) bewirkt Verfütterung von Schilddrüse oder jodhaltigen Schilddrüsenpräparaten an Amphibienlarven vorzeitige und stark beschleunigte Metamorphose, und zwar läßt sich diese zwangsläufige Metamorphose an Alyteslarven nach

[1]) Archiv f. Entwickelungsmechanik, Bd. **35**, S. 457, 1913.
[2]) Pflüg. Arch. Bd. **179**, S. 159, 1920.
[3]) Pflüg. Arch. Bd. **173**, S. 422, 1919.

Brendken[4]) und an den Larven des Feuersalamanders nach Otto Geßner[5]) auch im Herbst und Winter erzwingen.

Totalexstirpation der Schilddrüse bei Froschlarven hingegen verhindert nach Schultze[6]) die natürliche Metamorphose.

Auch die Entfernung der Hypo- und Epiphyse soll nach Adler[7]) Neotenie erzeugen, eine Erscheinung, die Gudernatsch und später andere Autoren nach Thymusfütterung an Kaulquappen auftreten sahen, wobei das Riesenwachstum der thymusgefütterten Larven besonders bemerkenswert ist.

In jüngster Zeit hat Otto Geßner[8]) gezeigt, daß die durch Schilddrüsenfütterung erzeugte künstliche Metamorphose und auch die natürliche Umwandlung von Amphibienlarven (Rana, Alytes, Salamandra, Bufo) durch Antithyreoidin-Moebius stark gehemmt bzw. aufgehoben werden kann.

Ueber die Natur des Antithyreoidins wissen wir noch nichts Sicheres — Untersuchungen über diesen Gegenstand sind im hiesigen Institut im Gange —, doch dürfte es sich bei der Antithyreoidinwirkung vielleicht auch um Hormonwirkung handeln.

Somit ist die Kaulquappenmetamorphose, und zwar hinsichtlich ihrer Beschleunigung oder Hemmung, zu einem bequemen und objektiven Prüfungsmittel für gewisse hormonale Wirkungen geworden.

Es lag daher nahe, besonders mit Rücksicht auf die Ergebnisse mit Antithyreoidin-Moebius, die Einwirkung des Insulins, des Hormons der Pankreasinseln, auf die durch Schilddrüsengaben bewirkte Metamorphose von Amphibienlarven zu prüfen, da das Insulin, als Hormon eines wahrscheinlich parasympathisch innervierten Inkretionsorgans, Antagonist des Schilddrüseninkretes sein könnte, was durch die Tatsache, daß Insulin in neuester Zeit mit Erfolg bei Basedow angewandt worden ist, recht wahrscheinlich geworden ist [Goffin[9]), Lawrence[10]), Thompson[11]), Richter[12]), Lepine und Parturier[13])].

Ferner sollte die Beeinflussung der durch Schilddrüsenbehandlung beschleunigten Metamorphose durch das parasympathische Hormon der Nebennierenrinde, das Cholin, untersucht werden.

Schließlich sollte ich prüfen, ob durch Pharmaka, die eine spezifische Wirkung auf das vegetative Nervensystem ausüben, eine Beeinflussung der natürlichen und der künstlich durch Schilddrüsenfütterung beschleunigten Metamorphose zu erzielen sein würde.

---

[4]) Anat. Anz. Nr. **46**, 1914.
[5]) Arch. f. experiment. Pathologie und Pharmakologie, Bd. **113**, S. 237, 1926.
[6]) Klin. Wochenschrift **1922**, S. 895.
[7]) Ebenda.
[8]) Arch. f. experiment. Pathologie und Pharmakologie, Bd. **113**, S. 237, 1926.
[9]) Le Scalpel Bd. **16**, 1924.
[10]) Brit. Medical Journal, London, Bd. **2**, S. 573, 1924.
[11]) Ebenda, S. 876.
[12]) Mediz. Klinik **1925**.
[13]) Compt. rend. Soc. de Biol. **90**, 269, 1924.

Versuchsanordnung.

Die Versuchsanordnung war im großen und ganzen dieselbe, wie sie Otto Geßner[14]) zu seinen Untersuchungen mit Antithyreoidin gewählt hatte.

Als Testobjekt benutzte ich außer zu den Versuchen mit Insulin, bei denen auch Larven der Erdkröte gewählt wurden, ausschließlich einjährige Larven der Geburtshelferkröte, Alytes obstetricans. Wegen ihrer zwei- bis dreijährigen Entwicklungszeit sind die Alyteslarven auch im Spätsommer und Herbst noch im reinen Larvenzustand, ohne Zeichen einer bereits einsetzenden Metamorphose zu erhalten. Die etwaigen Altersunterschiede suchte ich durch Auswahl von jeweils gleich großen Tieren auszuschließen. Am geeignetsten erwiesen sich Larven von 3,5—5,0 cm Gesamtlänge ohne jegliche Extremitätenbildung. Als Zuchtschalen dienten Kristallisierschalen mit einem Durchmesser von 12 cm und einer Höhe von 4 cm, die mit je 100 ccm Versuchsflüssigkeit beschickt wurden. Die Flüssigkeitsmenge wurde, sobald die Lungenatmung bei den metamorphosierten Tieren eingetreten war, in allen Schalen gleichmäßig verringert. Die Versuchsflüssigkeiten wurden alle 2—3 Tage erneuert, um Zersetzungen vorzubeugen; aus dem gleichen Grunde reichte ich den Tieren nur 1—2 Stunden vor jedem Wechsel der Versuchsflüssigkeiten Fischfutter, das von den Larven gern angenommen wurde. Ferner achtete ich darauf, daß Temperatur und Belichtung sowie vor allem die Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeiten in allen Schalen die gleiche war, weil nach Zondek und Ucko[15]) die Wasserstoffionenkonzentration für die Metamorphose von Amphibienlarven von besonderer Bedeutung ist. Es war somit in weitgehendster Weise die Gleichheit der Versuchsbedingungen gewährleistet.

Wegen der relativen Seltenheit der Alyteslarven konnte ich in jede Versuchsschale nur je drei Larven einsetzen, die zu Anfang des Versuches photographiert wurden. Im besonderen stellte ich noch die Gesamtlänge und die Schwanzlänge sämtlicher Larven vor Beginn des Versuches fest, da die Aenderungen dieser Maße als gute Kriterien bei den weiteren Veränderungen der Larven im Versuch zu verwerten waren. Als Zeichen der einsetzenden Metamorphose sind bei den Kröten- und Alyteslarven außer der Abnahme der Gesamt- und der Schwanzlänge die Ausbildung der sogenannten Geigenform des Rumpfes zu nennen, die dadurch zustande kommt, daß der hintere Teil des Rumpfes schrumpft, während sich der Vorderkörper mit Ausbildung der Lungenatmung immer mehr verbreitert. Weitere wichtige Zeichen der Metamorphose sind der Durchbruch und die Gliederung erstens der hinteren, dann der vorderen Extremitäten. Als vollendet wurde die Umwandlung angesehen, wenn der Schwanz vollständig verschwunden war. Zu erwähnen ist noch, daß mit Fortschreiten der Metamorphose eine Veränderung der Zeichnung und Färbung besonders der Alyteslarven Hand in Hand geht, die sich vor allem im Auftreten einer grauen Färbung der Haut mit kleinen schwarzen, runden Flecken zu erkennen gibt.

Die Veränderungen der Gesamt- und der Schwanzlängen der Versuchstiere stellte ich durch regelmäßige Messungen der Tiere mittels unter die Glasschalen geschobenen Millimeterpapieres fest. Aenderungen in der Form der Larven ließen sich besonders instruktiv durch wiederholte Aufnahmen der Larvenschattenbilder auf untergeschobenem Bromsilberpapier zur Darstellung bringen. Da die Lichtquelle, die zu diesen Aufnahmen benutzt wurde, stets in der gleichen Entfernung über der zu photographierenden Larvenschale angebracht war, konnten auch die durch die Photographie festgehaltenen Größenverhältnisse der Tiere verwertet werden. Am Schluß jedes Versuches wurden alle Larven in Kava-Kava-Narkose in natürlicher Größe photographiert.

Bevor ich zu den Hauptversuchen schritt, stellte ich zunächst die Toleranzgrenze der Kaulquappen gegen die zur Verwendung zu bringenden Pharmaka fest. Dies geschah, indem in kleinen Schälchen je eine Larve in eine Reihe verschiedener Konzentrationen des betreffenden Pharmakon verbracht und das Auftreten etwaiger Vergiftungserscheinungen beobachtet wurde. Auftreten von Krämpfen oder Lähmung innerhalb 2 Stunden zeigten eine zu starke toxische Wirkung an. Zur Verwendung

[14]) Arch. f. experiment. Pathologie und Pharmakologie, Bd. **113**, 237, 1926.

[15]) Klin. Wochenschrift **1924**, Heft 39.

kam dann eine Konzentration, die etwa $^1/_{100}$—$^1/_{10}$ der eben ohne sichtbare Vergiftungserscheinungen ertragenen betrug.

Als Schilddrüsenpräparat verwendete ich zu den Versuchen mit Insulin, Cholin, Muskarin, Pilokarpin und Atropin das Thyraden (Knoll) in einer Konzentration von 0,025—0,05/100 bei verschieden langer Einwirkungszeit.

A. Hormonale Wirkung:

1. Die Wirkung des Insulins auf mit Schilddrüsenpräparat (Thyraden) behandelte Amphibienlarven.

Die Frage des Pankreashormons ist trotz aller eifrigen Forschungen der Insulinära noch im Fluß. Doch weisen bereits zahlreiche Untersuchungen — insbesondere Stoffwechselbeobachtungen — darauf hin, daß zwischen Pankreasinseln und Schilddrüse wichtige hormonale Beziehungen, und zwar antagonistischer Art, bestehen; denn

1. bewirkt das Schilddrüsenhormon Erniedrigung der Zuckertoleranz nach Kramer[16]), Verminderung des Leberglykogens nach Kramer[17]), Parhou[18]);

2. tritt nach Thyreoidektomie Vergrößerung des Pankreas und Vermehrung der Langerhans'schen Inseln ein [Lorand[19]), Falta u. Bertelli[20])], ferner Erhöhung der Zuckertoleranz [Mc. Curdy[21])] und Erniedrigung des Blutzuckerspiegels [Janney u. Isaacdon[22])], alles Zeichen einer gesteigerten Funktion des inkretorischen Anteils der Bauchspeicheldrüse;

3. bewirkt bei gewissen Formen des Diabetes Entfernung der Schilddrüse Verschwinden oder Besserung des Leidens [Rhodenburg[23]), Crile[24]), O'Day[25]), Mc. Callum[26])],

4. scheint, wie oben schon kurz erwähnt, das Insulin eine günstige Wirkung auf die Basedowsche Krankheit, somit auf die Schilddrüsenhyperfunktion, auszuüben [Goffin[27]), Lawrence[28]), Thompson[29]), Richter[30]), Lepine und Parturier[31])];

5. haben mit Schilddrüse gefütterte Kaninchen eine beträchtliche Resistenz der Insulinwirkung gegenüber [Houssay u. Busso[32])] und andererseits

6. gelang es, bei winterschlafenden Igeln, die durch Zufuhr von Schilddrüsenhormon bekanntlich künstlich und vorzeitig erweckt werden können, diese erweckende Schilddrüsenwirkung durch Insulingaben zu hemmen oder gänzlich aufzuheben [Grevenstock und Laqueur[33])].

Um die Beziehungen zwischen Schilddrüsen- und Pankreashormon weiter verfolgen zu können, schien mir die von Otto Geßner[34]) für das Antithyreoidin-Moebius benutzte Kaulquappenmethode recht geeignet.

Im Kaulquappenversuch mußte sich nach allem eine etwaige antagonistische Wirkung zwischen Schilddrüsen- und Pankreashormon durch eine

---

16–26) Zit. bei Aubertin: L'Insuline S. 289 und 290, 1926.
27) Le Scalpel, Bd. **16**, 1924.
28) Brit. Medical Journal, London, Bd. **2**, S. 573, 1924.
29) Ebenda, S. 876.
30) Med. Klinik 1925.
31) Compt. rend. Soc. de Biol. **90**, 269, 1924.
32) Compt. rend. Soc. de Biol. **91**, S. 1037, 1924.
33) Grevenstock. u. Laqueur, Erg. d. ges. Physiol. v. Ascher-Spiro, Bd. **23**, S. 43.
34) Arch. f. experiment. Pathologie und Pharmakologie, Bd. **113**, 237, 1926.

Hemmung der durch Schilddrüsengaben zu erzwingenden Metamorphose darstellen und sich so ein weiterer Beitrag zur Schilddrüsen-Pankreaskorrelation erbringen lassen.

Als Insulinpräparat verwendete ich: Insulin „Gans" von der „Pharmagans", Oberursel i. Taunus, und zwar:

a) Siccol-Packung, rote Packung: 5 ccm mit 100 Einheiten,
blaue Packung: 5 ccm mit 200 Einheiten,

b) Trockeninsulin; 0,001 g = 20 Einheiten.

a) Versuche mit Erdkrötenlarven.

Versuch 1.

70 möglichst gleich große Larven von Bufo vulgaris, von derselben Zucht, in noch vollkommenem Larvenstadium, durchschnittliche Größe: 1,9 cm Gesamtlänge, 1,1 cm Schwanzlänge.

60 dieser Larven werden zu je 10 für 2½ Stunden in Thyraden 0,05/100 Leitungswasser verbracht, dann nach restloser Entfernung der Thyraden-Wassermischung (sorgfältiges Spülen der Schalen) eingesetzt in:

1. Wasser*)	100 ccm	Zeichen:	Th
2. Insulin**)	2,0/100 Wasser = 40 Einheiten	„	I = 1:50
3. Insulin	1,0/100 Wasser = 20 Einheiten	„	I = 1:100
4. Insulin	0,4/100 Wasser = 8 Einheiten	„	I = 1:250
5. Insulin	0,2/100 Wasser = 4 Einheiten	„	I = 1:500
6. Insulin	0,1/100 Wasser = 2 Einheiten	„	I = $1:10^3$

Als Kontrolle setzte ich die restlichen 10 Krötenlarven, die nicht mit Thyraden in Berührung gekommen waren, in

7. Wasser 100,0 ccm als Kontrolle.

In Schale 2 gingen fünf, in Schale 3 drei Larven in den ersten Tagen nach Insulinkrämpfen zugrunde.

Am 10. Tage war Versuch 1 mit der vollständigen Metamorphose der nur mit Thyraden behandelten Tiere (Th) vollendet.

Das Ergebnis von Versuch 1 gibt Abb. 1, welche alle Tiere in natürlicher Größe zeigt, wieder.

Die nur mit Thyraden behandelten Krötenlarven stellen sich jetzt als vollständig entwickelte, allerdings winzig kleine Kröten dar.

Die Larven aus Schale 2, die außer der Thyradenwirkung der Einwirkung von 40 Einheiten Insulin in 100 ccm Wasser ausgesetzt waren, sind im reinen Larvenstadium verblieben: Extremitäten noch nicht erschienen, Schwanz nicht reduziert, keine Veränderung der Rumpfform; es zeigt sich hiermit eine sehr auffallende Hemmung der Metamorphose gegenüber den Tieren aus Schale 1 (Th).

---

*) Als Wasser wurde in allen Fällen, auch zu den Mischungen mit Insulin und zu den Alkaloidsalzlösungen, Leitungswasser verwendet.

**) Zu diesem Versuch 1 benutzte ich ausschließlich Insulin „Gans" Siccolpackung blau mit 200 Einheiten in 5 ccm und löste das Trockeninsulin in 5 ccm zusatzfreier n/100 HCl.

Mit zunehmender Verdünnung des Insulins in den Schalen (I = 1:100, I = 1:250, I = 1:500) zeigt sich eine deutliche Abnahme der die Metamorphose

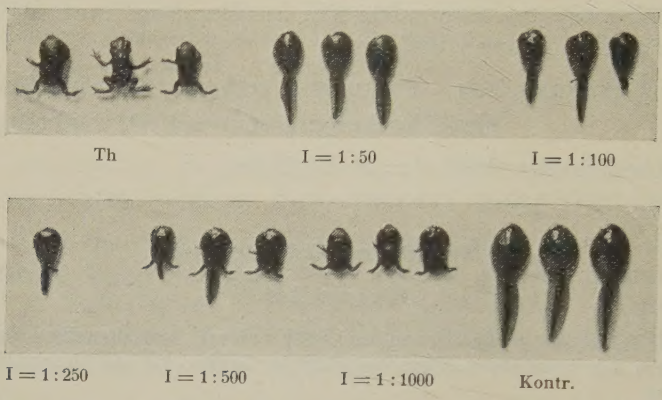
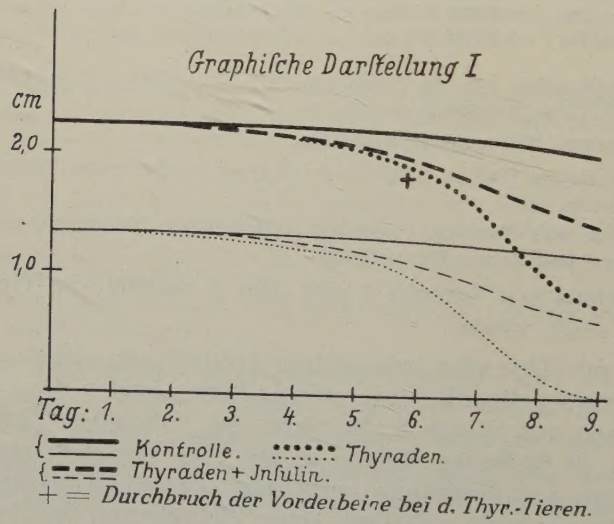


Abb. 1. (5/6 der natürlichen Größe.)
Krötenlarven: Th = nur mit Thyraden behandelt.
I = 1 : 50 mit Thyraden und Insulin 40 E/100 behandelt.
I = 1:100 „ „ „ „ 20 E/100 „
I = 1:250 „ „ „ „ 8 E/100 „
I = 1:500 „ „ „ „ 4 E/100 „
I = 1:1000 „ „ „ „ 2 E/100 „
Kontrolle = Larven in reinem Wasser gehalten.



Erklärung zur graphischen Darstellung 1: Die fettausgezogenen Kurven stellen die Gesamtlängen, die schwachausgezogenen Kurven stellen die Schwanzlängen der Versuchstiere dar. + = Durchbruch der Vorderbeine bei den Thyradentieren (bei den anderen Larven nicht erfolgt).

hemmenden Insulinwirkung, in Schale 6 ist (I = 1:1000) eine Verzögerung der Metamorphose nicht mehr sichtbar, woraus zu entnehmen ist, daß zwei Einheiten Insulin in 100 ccm Wasser (I = 1:1000) keine sichtbare Hemmung

mehr bewirkt hat. Die Kontrolltiere in Schale 7 zeigen keine Veränderung gegen den Zustand zu Beginn des Versuches.

Ueber die Aenderungen der Gesamt- und der Schwanzlängen der Tiere aus Schale 1 (Th), Schale 2 (I = 1:50), Schale 7 (Kontrollen) gibt die graphische Darstellung 1 Aufschluß.

b) Versuche an Geburtshelferkrötenlarven.

Versuch 2.

15 einjährige, möglichst gleich große und gleich alte Larven der Geburtshelferkröte, Alytes obstetricans.

12 dieser Larven werden zu je drei der zweistündigen Einwirkung von Thyraden 0,05/100 Wasser ausgesetzt und gelangen dann nach sorgfältiger Ausspülung der Schale in:

1. Wasser 100 ccm	Zeichen:	Th
2. Insulin*) 2,0/100 Wasser = 40 Einheiten in 100 ccm Wasser	„	I = 1:100
3. Insulin 1,0/100 Wasser = 20 Einheiten in 100 ccm Wasser	„	I = 1:200
4. Insulin 0,4/100 Wasser = 8 Einheiten in 100 ccm Wasser	„	I = 1:250

Die restlichen drei Alyteslarven, die nicht mit Thyraden in Berührung gekommen sind, werden verbracht in:

5. Wasser 100 ccm zur Kontrolle. Zeichen: Kontr.

Versuchsverlauf: Am 5. Versuchstag treten in Schale 2 bei zwei Tieren Krämpfe auf, doch erholen sich die Larven in reinem Wasser. Vom 15. Versuchstage ab werden alle Tiere in reinem Wasser gehalten. Bemerkenswert ist noch, daß die mit Insulin behandelten Tiere in der ersten Zeit eine starke Verbreiterung des vorderen Rumpfteiles und vorübergehend Atemstörungen zeigen. Die Larven erscheinen wie gebläht, und von der Bauchseite aus sieht man unter der Haut rechts und links je eine Luftblase durchschimmern. Später verschwinden diese offenbar mit der vorzeitigen Ausbildung und Funktion der Lungen im Zusammenhang stehenden Erscheinungen wieder.

Am 36. Versuchstag wird der Versuch 2, der ein von dem des ersten Versuches stark abweichendes Ergebnis zeigt, abgebrochen: Während die nur mit Thyraden behandelten Larven nicht über die Anfänge der Metamorphose herausgekommen sind, zeigen die Insulintiere in allen drei Schalen ein weiter fortgeschrittenes Stadium der Metamorphose. Bei allen Larven aus Schale 2—5 sind die hinteren Extremitäten, bei mehreren Tieren auch die Vorderbeine vorhanden, der Schwanz bei einigen Larven stark reduziert. Die Kontrollen weisen auch hier gegen den Beginn des Versuches keine Veränderung auf. Es hat sich somit bei den Insulintieren eine deutliche Beschleunigung der Metamorphose gegenüber den nur mit Thyraden behandelten Larven gezeigt.

Der Widerspruch zwischen Versuch 1 und 2 erklärt sich aus folgendem: Das in Versuch 2 verwendete Insulin wurde statt, wie im ersten Versuch,

*) Verwendet wurde zu Versuch 2 Insulin „Gans", Siccolpackung rot, 5 ccm = 100 Einheiten; hier wurde die beigegebene phenolhaltige n/100-Salzsäurelösung mitbenutzt.

in zusatzfreier n/100-Salzsäure in der beigegebenen, mit Phenol versetzten Salzsäurelösung gelöst; da zudem in Versuch 2 die doppelten Mengen Insulinlösungen verwendet werden mußten, um dieselben Konzentrationen, bezogen auf Insulineinheiten, zu erhalten, so ergab sich eine erhebliche Phenolkonzentration in sämtlichen Insulinschalen. Das Phenol wirkt nun, nach bisher noch nicht veröffentlichten Versuchen von Otto Geßner, deutlich beschleunigend auf die durch Schilddrüsenwirkung hervorgerufene Metamorphose ein.

Wurde somit in Versuch 2 die Insulinwirkung nur durch das Phenol verdeckt, so mußte sich bei Verwendung von phenolfreien Insulinlösungen die metamorphosehemmende Wirkung auch an Alyteslarven in derselben Weise wie bei den Krötenlarven in Versuch 1 zeigen lassen.

Versuch 3.

15 möglichst gleich große und gleich alte, einjährige Larven von Alytes obstetricans.

12 dieser Larven werden zu je drei eine halbe Stunde lang der Einwirkung von Thyraden 0,025/100 Wasser ausgesetzt und gelangen dann nach sorgfältigem Ausspülen der Schalen in:

1. Wasser 100 ccm		Zeichen: Th
2. Insulin*) 1/100 ccm Wasser = 40	Einheiten in 100 ccm Wasser	„ I = 1:100
3. Insulin 0,5/100 ccm Wasser = 20	Einheiten in 100 ccm Wasser	„ I = 1:200
4. Insulin 0,33/100 ccm Wasser = 13,3	Einheiten in 100 ccm Wasser	„ I = 1:300

Die restlichen drei Alyteslarven, die nicht mit Thyraden in Berührung gekommen sind, werden verbracht in:

1. Wasser 100 ccm	Zeichen: Th

Die Versuchsdauer beträgt hier 50 Tage. Da die Metamorphose der nur mit Thyraden behandelten Larven sehr langsam fortschreitet, werden am 14. Versuchstage die Larven aus Schale 1—4, somit alle Larven mit Ausnahme der Kontrollen, nochmals in gleicher Weise der zweistündigen Einwirkung von Thyraden 0,05/100 Wasser ausgesetzt, darauf wie vorher weiterbehandelt; vom 30. Versuchstage an befinden sich sämtliche Larven in reinem Wasser.

Das Ergebnis von Versuch 3 ist durch Abbildung 2 wiedergegeben.

Die nur mit Thyraden behandelten Larven sind vollkommen zu Kröten umgewandelt (Th). Die der Einwirkung von Insulin 1:50 unterworfenen Alyteslarven befinden sich bis auf sehr kleine Hinterbeinstummel noch im vollkommenen Kaulquappenstadium; in Schale 3 (I = 1:200) ist die Hemmung der Metamorphose ebenfalls noch äußerst stark, doch sind die hinteren Extremitäten bereits ganz schwach entwickelt. Hingegen weisen die Tiere in Schale 4 (I = 1:300) deutliche Zeichen der Metamorphose auf (Aenderung der Rumpfform, hintere und vordere Extremitäten); immerhin ist auch hier noch eine sichtbare Hemmung gegenüber den Thyradentieren vor-

*) Verwendet wurde Insulin „Gans", Siccolpackung blau, 5 ccm = 200 Einheiten; die beigegebene phenolhaltige n/100-Salzsäurelösung wurde restlos entfernt und das Trockeninsulin in 5 ccm reiner n/100-Salzsäurelösung gelöst.

handen, da von Schwanzreduktion noch nichts zu bemerken ist. Die Kontrollen zeigen auch in diesem Versuch keine Veränderung gegen den Zustand zu Beginn der Versuche.

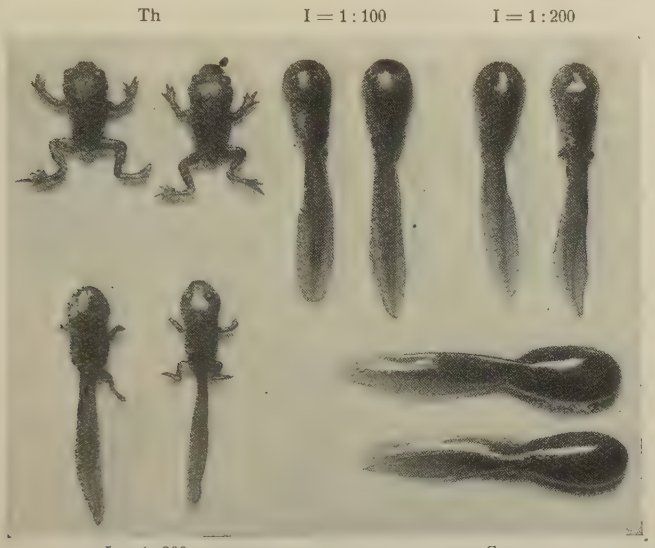


Abb. 2. ($^5/_6$ der natürlichen Größe.)
Alyteslarven: Th = nur mit Thyraden behandelt.
I = 1 : 100 mit Thyraden und Insulin 40 E/100 behandelt.
I = 1 : 200 „ „ „ „ 20 E/100 „
I = 1 : 300 „ „ „ „ 13,3 E/100 „
C = Kontrollen.

Versuch 4.

12 einjährige, möglichst gleich große und gleich alte Larven von Alytes obstetricans. 9 dieser Larven werden zu je 3 der zweistündigen Einwirkung von Thyraden 0,05/100 ccm Wasser ausgesetzt und gelangen dann, nach sorgfältigem Ausspülen der Schalen, in:

1. Wasser 100 ccm — Zeichen: Th
2. Insulin*) 1,0/100 ccm Wasser = 40 Einheiten in 100 ccm Wasser — „ I = 1:100
3. Insulin 0,5/100 ccm Wasser = 20 Einheiten in 100 ccm Wasser — „ I = 1:200

Die restlichen drei nicht mit Thyraden in Berührung gekommenen Larven werden verbracht in:

4. Wasser 100 ccm als Kontrolle — Zeichen: Ko.

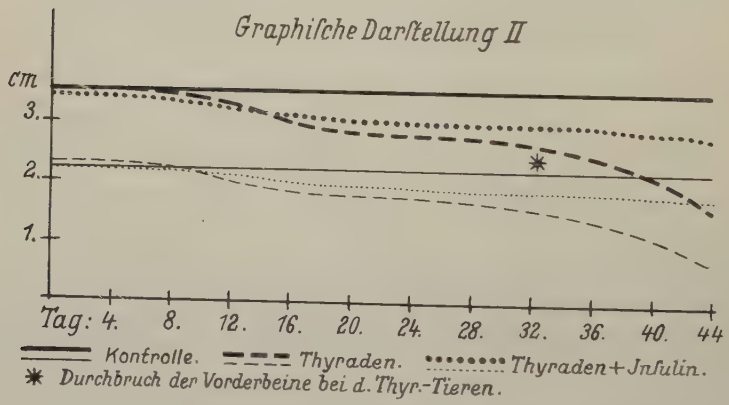
Wegen der verhältnismäßig schwachen Schilddrüsenwirkung werden am 7. und 14. Versuchstage alle Larven, mit Ausnahme der Kontrollen, nochmals gleichmäßig 1 Stunde lang in Thyraden 0.05/100 verbracht, und dasselbe, diesmal für die Dauer von 2 Stunden, am 29. Versuchstage wiederholt; Insulin wird bis zum 34. Versuchstage gereicht. Bei den Insulintieren traten verschiedentlich Krämpfe auf, an denen am 32.

*) Zu diesem Versuch wurde Trockeninsulin „Gans“ (1 mg = 20 Einheiten) verwendet und in so viel n/100 Salzsäure, daß 1 ccm der Lösung 40 Einheiten Insulin enthielt, gelöst.

und am 35. Versuchstage in jeder Schale ein Tier einging. Am 44. Versuchstage wird der Versuch abgebrochen.

Das Ergebnis dieses Versuches ist durch die Abbildung 3 und die graphische Darstellung 2 wiedergegeben.

Abb. 3. ($^5/_6$ der natürlichen Größe.)
Th = nur mit Thyraden behandelt.
I = 1:100 mit Thyraden und Insulin 40 E/100 behandelt.
I = 1:200 „ „ „ „ 20 E/100 behandelt.
Ko = Kontrollen.



Erklärung zur graphischen Darstellung II: Die fettausgezogenen Kurven stellen die Gesamtlängen, die schwachausgezogenen Kurven die Schwanzlängen der Versuchstiere dar.

Es zeigt sich somit auch in diesem Versuch eine erhebliche Hemmung der Metamorphose bei den mit Insulin behandelten, unter Schilddrüsenwirkung stehenden Alyteslarven.

Zusammenfassung.

Insulin vermag die durch Thyraden zu erzwingende Metamorphose von Kröten- und Geburtshelferkrötenlarven zu verhindern oder erheblich zu hemmen.

2. Die Wirkung des Azetyl-Cholin auf unter Schilddrüsenwirkung stehende Alyteslarven.

Falta[35]) stellt in seiner Gruppierung der Blutdrüsen nach ihrer physiologischen Wirkung in erster Reihe auf Grund der durch sie hervorgerufenen Beeinflussung der Stoffwechselvorgänge der katabolisch, dissimilatorisch wirkenden Schilddrüse die anabolisch, assimilatorisch wirkende Nebennierenrinde gegenüber (Biedl).

Da nun gerade die Gewebsstoffwechsel steigernde Wirkung des Schilddrüseninkretes als Hauptursache der natürlichen und künstlichen Metamorphose angesehen werden muß, wenn auch außerdem noch eine Beeinflussung des Salz- und Wasserhaushaltes im Sinne der Entquellung der Gewebe durch das Schilddrüsenhormon eine Rolle zu spielen scheint, mußte sich im Kaulquappenversuch dieser Antagonismus zwischen Schilddrüse und Nebennierenrinde erweisen lassen.

Als Nebennierenrindenpräparat wurde nicht das Cholin selbst, sondern das Azetyl-Cholin verwendet, da man heute anzunehmen geneigt ist, daß nicht das Cholin selbst, sondern erst das im Organismus azetylierte Cholin als Hormon wirksam wird.

Versuch 5.

12 möglichst gleich große und gleich alte, einjährige Larven der Geburtshelferkröte, Alytes obstetricans;

9 dieser Larven werden zu je 3 für die Dauer von ½ Stunde in Thyraden 0,025/100 Wasser eingesetzt und kommen dann nach sorgfältiger Reinigung der Schalen in:

1. Wasser 100 ccm	Zeichen:	Th
2. Azetyl-Cholin 0,1/100 Wasser = 1:1000.	„	Ac-Chol. 1:1000
3. Azetyl-Cholin 0,02/100 Wasser = 1:5000.	„	Ac-Chol. 1:5000

Die restlichen drei Larven, die nicht mit Thyraden in Berührung gekommen sind, werden verbracht in:

4. Wasser 100 ccm zur Kontrolle	Zeichen: C.

Die Versuchsdauer beträgt 28 Tage; am 14. Versuchstag werden die Larven in Schale 1—3, da die Schilddrüsenwirkung zu schwach erscheint, nochmals gleichmäßig für 2 Stunden in Thyraden 0,05/100 Wasser verbracht. Das Schlußbild (Abb. 4) zeigt die Thyradentiere in einem sehr fortgeschrittenen Stadium der Metamorphose: sämtliche Extremitäten sind wohl ausgebildet, Rumpfform und Zeichnung sind die der alten Tiere, und bei einem Tier ist der Schwanz bereits fast völlig reduziert. Dagegen imponieren die Azetyl-Cholintiere aus Schale 2 noch als regelrechte Kaulquappen: keine Geigenform, Hinterextremitäten nur als kleine Stummel vorhanden, Schwanzsaum nicht sichtlich verschmälert, die Schwänze selbst vor allem nicht verkürzt. Es liegt somit eine erhebliche Hemmung der Metamorphose der mit Azetyl-Cholin behandelten Alyteslarven vor. In Schale 3 zeigen die Larven ein zwischen dem der Thyradentiere und der mit Azetyl-Cholin 1 : 1000 behandelten Larven stehendes Entwicklungsstadium, das immerhin noch deutlich hinter dem der Thyradentiere zurücksteht.

Die durch Schilddrüsengaben zu erzwingende vorzeitige Metamorphose von Alyteslarven wird mithin durch Azetyl-Cholin erheblich gehemmt, und zwar ausgesprochen in einer Konzentration von 1 : 1000. Diese Hemmung

[35]) S. Biedl: Innere Sekretion, III. Aufl., Bd. 1, S. 31.

ist um so auffälliger, als das p_H der verwendeten Azetyl-Cholinlösung (1 : 1000) 6,1 gegenüber 7,05 des benutzten Leitungswassers und aller anderen Lösungen betrug. Nach Zondek und Ucko[36]) wird die entwicklungsfördernde Wirkung der Schilddrüsenpräparate bei diesem Säuregrad erheblich verstärkt, während sie oberhalb des Neutralpunktes (7,0) erheblich abgeschwächt wird.

Ac. Ch. 1:1000 Ac. Ch. 1:5000

Th

Abb. 4. ($^5/_6$ der natürlichen Größe.)
Alyteslarven: Th = nur mit Thyraden behandelt.
Ac. Chol. 1:1000 mit Thyraden und Azetylcholin 1:1000 behandelt.
„ „ 1:5000 „ „ „ „ 1:5000 „
Kontrollen dieselben wie in Abbildung 2, siehe dort.

B. Neurohormonale Wirkung.

3. Die Wirkung von Muskarin, Pilokarpin und Atropin auf unter Schilddrüsenwirkung stehende Amphibienlarven.

Durch die Untersuchungen in Abschnitt A, namentlich durch den Cholin-Thyradenantagonismus, wurde meine Aufmerksamkeit auf ein Organsystem gelenkt, das in engstem Zusammenhang mit dem endokrinen System steht, gleichsam mit ihm eine funktionelle Einheit bildet, nämlich das vegetative Nervensystem.

[36]) Klin. Wochenschrift **1924**, Heft 39.

Nach Gottlieb[37]) sieht man in dem Cholin bzw. dem aus ihm im Stoffwechsel entstehenden Azetyl-Cholin den physiologischen Reiz für das parasympathische Nervensystem. Auch das Insulin wirkt nach v. Noorden[38]), Garrelon und Santenoise[39]) ausgesprochen parasympathicotrop. Andererseits sehen wir in dem Schilddrüsenhormon den Erreger des Antagonisten, des sympathischen Nervensystems. Bildet so das Hormon einen Reiz für das vegetative Nervensystem, so sprechen Beobachtungen dafür, daß auf die Hormonausschüttung auch nervöse Impulse von Einfluß sind. So weiß man nach Jarisch, daß die Wirkung des Zuckerstiches abhängig ist von der Intaktheit der zu den Nebennieren führenden Aeste des N. splanchnicus, die den Reiz auf die Nebennieren übermitteln. Jarisch[40]) konnte nämlich zeigen, daß die Piqûre auch dann wirksam bleibt, wenn die Leber sowohl vom Zentrum als auch von den Nebennieren nervös isoliert und nur die Innervation der Nebennieren erhalten ist. Damit ist die Auffassung von Trendelenburg und Fleischhauer[41]), daß der Zuckerstich unmittelbar via N. splanchnicus auf den Leberzucker mobilisierend wirkt, erschüttert.

Ferner bewirkt Reizung des Vagus Hypoglykaemie nach Macleod[42]), Brotton[43]), die Clark[44]) auf vermehrte Insulinausschüttung zurückführt. Interessant ist auch die Auffassung von Zondek und Reiter[45]) über die Bedeutung des vegetativen Nervensystems für die innere Sekretion. Diese Autoren sehen auf Grund ihrer Untersuchungen an Kaulquappen über die Beeinflussung der Hormonwirkung durch Kationen in gewissen, positiv geladenen Metallionen das Bindeglied zwischen Hormon und Erfolgsorgan, derart, daß durch nervöse Regelung der Elektrolytverhältnisse an der Zellmembran die optimalen Bedingungen für die Hormonwirkung geschaffen werden.

Auf Grund obiger Beobachtungen lag es nahe, die Wechselwirkung zwischen den verschiedenen Systemen im Kaulquappenversuch zu untersuchen, und zwar konnte vermutet werden, daß die sympathicotrope Schilddrüseninkretwirkung durch parasympathicotrop erregend wirkende Pharmaka zu hemmen und andererseits durch Lähmung des Parasympathikus zu fördern sein würde.

Als parasympathicotrop wirkende Pharmaka wurden verwendet: Muskarin (Grübler), Pilocarpinum hydrochloricum (Merck) und Atropinum sulfuricum (Merck).

---

[37]) Meyer-Gottlieb: Pharmakologie **1925.**
[38]) Ref. Aubertin: L'Insuline, S. 288, 1926.
[39]) Ref. Grevenstock u. Laqueur: Erg. d. Physiologie v. Ascher-Spiro, Bd. **23,** II. Abt., S. 43.
[40]) Biedl: Innere Sekretion, **III.** Aufl., S. 629.
[41]) Meyer-Gottlieb: Pharmakologie, S. 214, 1925.
[42]) Ref. Aubertin: L'Insuline, S. 281, 1926.
[43]) Ebenda.
[44]) Ebenda.
[45]) Klin. Wochenschrift **1923,** S. 1344.

Versuch 6.

24 möglichst gleich große und gleich alte, einjährige Larven von Alytes obstetricans ohne jedes Anzeichen der Metamorphose.

21 dieser Larven werden zu je 3 für 2 Stunden der Einwirkung von Thyraden 0,05/100 ccm Wasser ausgesetzt und dann nach sorgfältigem Ausspülen der Schalen verbracht in:

1. Wasser 100 ccm		Zeichen: Th
2. Muskarin 1 : 500 000	100 ccm	„ M = 1 : 500 000
3. Muskarin 1 : 250 000	100 ccm	„ M = 1 : 250 000
4. Pilocarpin 1 : 100 000	100 ccm	„ P = 1 : 100 000
5. Pilocarpin 1 : 50 000	100 ccm	„ P = 1 : 50 000
6. Atropin 1 : 1 000 000	100 ccm	„ A = 1 : 1 000 000
7. Atropin 1 : 500 000	100 ccm	„ A = 1 : 500 000

Die restlichen drei Larven, die nicht mit Thyraden in Berührung gekommen sind, werden eingesetzt in:

8. Wasser 100 ccm zur Kontrolle Zeichen: C.

Die Versuchsdauer beträgt 36 Tage; vom 12. Tage ab werden sämtliche Versuchstiere in reinem Wasser gehalten. Am 8. und 9. Versuchstage gehen alle Atropintiere (Schale 6 und 7) sowie die Muskarintiere aus Schale 2 (Muskarin 1:500 000) an den schon in Versuch 2 beschriebenen Atemstörungen ein. Diese Tiere waren, was leider aus äußeren Gründen im Bilde nicht festgehalten werden konnte, in der Entwicklung weiter fortgeschritten als die nur mit Thyraden behandelten Tiere; besonders die Atropintiere wiesen ein Stadium der Metamorphose auf, gegen das die Thyradentiere deutlich zurückgeblieben erschienen, was sich vor allem auch in dem 36 Stunden früher erfolgten Durchbruch der Hinterbeine sowie in der Reduktion des Schwanzes bei den Atropintieren zu erkennen gab.

Am 36. Versuchstage wird der Versuch wegen der langsamen Fortschritte der Thyradentiere abgebrochen. An diesem Tage wiesen die Thyradentiere Hinter- und teilweise Vorderbeine auf, die Muskarin- (M 1 : 250 000) und Pilokarpintiere (P 1 : 100 000) dagegen nur kleine Hinterbeine. Die Maße der Gesamt- und der Schwanzlängen sind aus der folgenden Tabelle zu entnehmen:

Tabelle 1.

Gesamt- und Schwanzlängen der mit Thyraden, mit Thyraden und Muskarin 1:250 000 und der mit Thyraden und Pilokarpin 1:100 000 behandelten Alytes-larven am 36. Versuchstage.

Larven, behandelt mit:	Gesamtlängen cm	Durchschnitt cm	Schwanzlängen cm	Durchschnitt cm
Thyraden	3,1 2,9 1,75	2,5	1,6 1,5 0,4	1,1
Thyraden+Muskarin 1:250 000	2,6 2,5 —	2,55	1,5 1,3 1,4	1,4
Thyraden+Pilokarpin 1:100 000	2,9 3,0 2,8	2,9	1,6 1,7 1,6	1,6

Es zeigt sich somit, daß die Muskarin- und Pilokarpintiere an Gesamt- und Schwanzlängen die Thyradentiere übertreffen, daß somit auch hier eine gewisse Hemmung der Metamorphose zu erkennen ist.

Aus dem Versuch 6 ergibt sich somit, daß Muskarin und Pilokarpin einen hemmenden, Atropin dagegen einen fördernden Einfluß auf die die

Metamorphose von Alyteslarven erzwingende Schilddrüsenwirkung ausüben. Sobald neues Tiermaterial zur Verfügung steht, soll der Versuch mit Muskarin und Pilokarpin in mehreren Konzentrationen wiederholt werden, da es nicht unwahrscheinlich ist, daß die hemmende Wirkung dieser parasympathicotropen Pharmaka in höheren Konzentrationen stärker hervortreten würde.

Eine weitere Bestätigung des fördernden Einflusses von Atropin auf die metamorphosierende Wirkung des Thyradens konnte ich durch den folgenden Versuch 7 erbringen.

Versuch 7.

12 möglichst gleich große und gleich alte, einjährige Alyteslarven ohne jedes Anzeichen der Metamorphose.

9 dieser Larven werden zu je 3 der halbstündigen Einwirkung von Thyraden 0,025/100 ccm Wasser ausgesetzt und dann nach sorgfältigem Ausspülen der Schale verbracht in:

1. Wasser 100 ccm	Zeichen:	Th
2. Atropin 1 : 1 000 000 100 ccm	„	Atrop. $= 1 : 10^6$
3. Atropin 1 : 500 000 100 ccm	„	Atrop. $= 1 : 500\,000$

Die restlichen drei, nicht mit Thyraden in Berührung gekommenen Larven werden verbracht in:

4. Wasser 100 ccm zur Kontrolle	Zeichen:	C

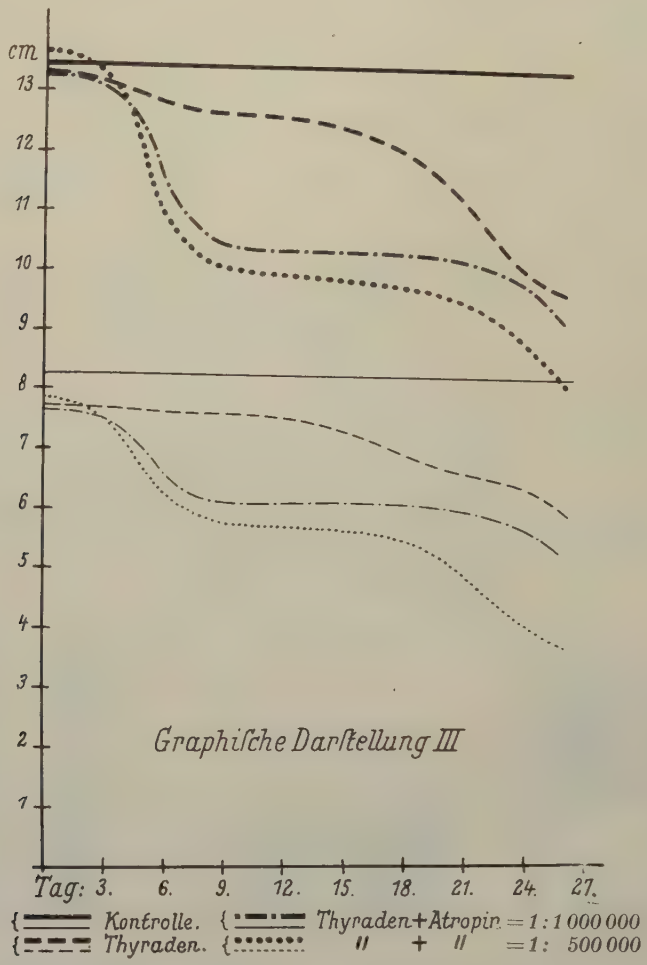
Die Versuchsdauer beträgt 29 Tage; wegen zu langsamer Entwicklung der Thyradentiere werden alle Larven mit Ausnahme der Kontrollen am 14. Versuchstage nochmals gleichmäßig 2 Stunden lang der Einwirkung von Thyraden 0,05/100 ccm Wasser ausgesetzt. Ueber den Verlauf dieses Versuches orientiert am besten die graphische Darstellung III, welche die Veränderungen der Gesamt- und der Schwanzlängen (Summenmaße) der Versuchstiere wiedergibt, ferner die in Abbildung 5 dargestellte, am 29. Versuchstage gewonnene Photographie.

Th Atrop = 1 : 500000 C

Abb. 5. ($^5/_6$ der natürlichen Größe.)
Th = nur mit Thyraden behandelt.
Atropin 1 : 500 000 mit Thyraden und Atropin = 1 : 500 000 behandelt.
C = Kontrollen.

Aus der graphischen Darstellung III und aus der Abbildung 5 geht deutlich hervor, daß die Metamorphose der unter Schilddrüsenwirkung stehenden Alyteslarven durch Atropin, und zwar proportional der Atropinkonzentration, erheblich gefördert worden ist. Der Fortschritt in der Metamorphose

der Atropintiere gegenüber den nur mit Thyraden behandelten Larven kam schon am Ende der 2. Woche sehr deutlich zum Ausdruck in den Schattenbildern, die leider aus äußeren Gründen nicht mit in die Arbeit aufgenommen werden konnten; auf diesen Schattenbildern wiesen zu dem genannten Zeitpunkt die Thyradenlarven noch die typische Kaulquappenform auf, während die Atropintiere bereits hochgradige Geigenform zeigten.



Erklärung zur graphischen Darstellung III: Die fettausgezogenen Kurven stellen die Gesamtlängen, die schwachausgezogenen Kurven die Schwanzlängen der Versuchstiere dar.

4. Die Wirkung des Atropins auf nicht unter Schilddrüsenwirkung stehende Amphibienlarven.

Nachdem ich im vorherigen Abschnitt gezeigt habe, daß dem Atropin eine die Schilddrüsenwirkung auf Amphibienlarven erheblich fördernde

Wirkung zukommt, sollte nun untersucht werden, ob Atropin für sich die Metamorphose von Amphibienlarven zu beeinflussen imstande sein würde, etwa derart, daß durch Ausschaltung des Parasympathikus das endokrine Gleichgewicht zugunsten einer relativ stärkeren Schilddrüsenwirkung verschoben werden könnte.

Es muß jedoch vorweggenommen werden, daß man diese Fragestellung zweckmäßiger an solchen Larven verfolgt, denen auch tatsächlich eine natürliche, jahreszeitlich bedingte Entwicklungstendenz innewohnt. Hiervon kann bei den im Spätsommer und Herbst an Alyteslarven vorgenommenen Versuchen kaum die Rede sein.

Ich stellte zwei Versuche an, von denen, da das Ergebnis in beiden das gleiche war, nur der eine hier wiedergegeben werden soll.

Versuch 8.

6 gleich große, einjährige Alyteslarven im vollkommenen Kaulquappenzustand werden zu je 3 eingesetzt in:

1. Atropin 1:500 000 100 ccm
2. Wasser 100 ccm zur Kontrolle.

Alle 2—3 Tage werden die Versuchsflüssigkeiten erneuert. Versuchsdauer 44 Tage; da in dieser Zeit keine Veränderung der Atropintiere gegenüber den Kontrollen aufgetreten ist, wird der Versuch abgebrochen; aus dem gleichen Grunde wird von der Wiedergabe der am Schluß des Versuches hergestellten Photographie abgesehen.

Eine Metamorphose oder auch nur ein Ansatz dazu konnte mithin unter dem Einfluß der Atropinisierung unter den obigen Versuchsbedingungen nicht festgestellt werden; jedoch scheint eine Wiederholung des Versuches im nächsten Frühjahr an Kröten- und Froschlarven aus den oben angeführten Gründen immerhin angebracht.

C. Anhang.

5. Die Wirkung von Jodothyrin auf Amphibienlarven.

Bei der Durchsicht der Literatur fiel es mir auf, daß in den zahlreichen Arbeiten, die sich mit der Schilddrüsenwirkung auf Amphibienlarven befassen, nirgends als Schilddrüsenpräparat das Jodothyrin verwendet wurde. Es ist dies um so auffälliger, als diesem jodhaltigen, stoffwechselaktiven Schilddrüsenpräparat von vornherein auch die metamorphosierende Wirkung des Schilddrüsenhormons hätte zugeschrieben werden können.

Es soll deshalb an dieser Stelle über einen Versuch berichtet werden, der mit Jodothyrin an Alyteslarven zur Ausführung kam.

Versuch 9.

6 möglichst gleich große, gleich alte, einjährige Larven der Geburtshelferkröte. Alytes obstetricans, in vollkommenem Kaulquappenstadium.

Je 3 dieser Larven werden eingesetzt in:

1. Jodothyrin 0,05/100 Wasser — Zeichen: Jodoth.
2. Wasser 100 ccm zur Kontrolle — „ Ko.

Nach sechsstündiger Einwirkung des Jodothyrins werden die Jodothyrinlarven ebenfalls in reines Wasser verbracht. Versuchsdauer 44 Tage. Wegen zu langsam fort-

schreitender Metamorphose werden die Jodothyrintiere am 7. Versuchstag für 1 Stunde, am 34. Versuchstag für 6 Stunden der nochmaligen Einwirkung von Jodothyrin 0,05/100 Wasser ausgesetzt. Am 44. Versuchstage werden die Versuchstiere photographiert und der Versuch abgebrochen, da aus äußeren Gründen die völlige Metamorphose nicht abgewartet werden konnte, was für die Fragestellung auch ohne wesentliche Bedeutung war.

Das Ergebnis des Versuches 9 ist aus der Abbildung 6 ersichtlich.

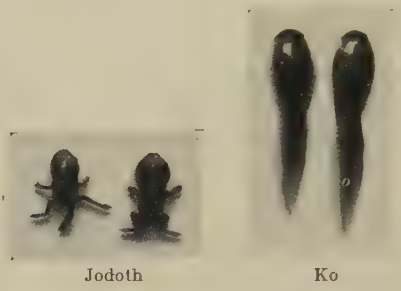


Abb. 6. ($^5/_6$ der natürlichen Größe.)
Jodoth = mit Jodothyrin behandelte Alyteslarven.
Ko = Kontrollen, unter den gleichen Bedingungen in reinem Wasser gehalten.

Aus dieser Abbildung ist zu entnehmen, daß das Jodothyrin die Metamorphose von Alyteslarven, und zwar im Herbst, zu erzwingen vermag, daß somit in qualitativer Hinsicht zwischen Jodothyrin und den übrigen, vorzeitige Metamorphose von Amphibienlarven bewirkenden Schilddrüsenpräparaten kein Unterschied besteht.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Betrachten wir zunächst die hormonale Wirkung auf die Metamorphose von Amphibienlarven:

Unter Berücksichtigung eingangs erwähnter Ergebnisse verschiedener Autoren, die sich mit Untersuchungen über die hormonale Beeinflussung der Larvenmetamorphose befaßt haben, läßt sich die Reihe der metamorphose-aktiven Hormone erweitern. So beschleunigt nach Rohrer[46]) Suprarenin und Hypophysin die Schilddrüsenwirkung, während nach Romeis[47]) die Thymus und nach Otto Geßner[48]) das Antithyreoidin sowohl eine Hemmung der natürlichen, wie auch der durch Schilddrüsensubstanzen künstlich auszulösenden Metamorphose bewirkt. Wir können somit die Hormone nach ihrem Verhalten gegenüber der Amphibienlarvenmetamorphose in zwei Gruppen scheiden; und zwar wirken die Hormone innerhalb derselben Gruppen synergetisch, während zwischen den Gliedern der verschiedenen Gruppen ein Antagonismus besteht. Die erste Gruppe umfaßt Thyreoidea, Nebennieren-Mark und Hypophyse, die zweite Thymus,

[46]) Inaug.-Dissert. Marburg 1922.
[47]) Pflüg. Arch. **173**, 422, 1919.
[48]) Arch. f. experiment. Pathologie und Pharmokologie **113**, 237, 1926.

Nebennieren-Rinde und Pankreasinseln, dazu kommt noch das Sekretionsorgan des Antithyreoidins, dessen Ursprung bisher noch nicht feststeht; doch soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß Rudinger[49]) in dem Antithyreoidin ein an Parathyreoidea-Inkret reiches Serum sieht.

Im Mittelpunkt der natürlichen wie der künstlichen Metamorphose steht die Glandula thyreoidea, als einziges Inkretionsorgan, dessen Hormon für sich allein Metamorphose auszulösen vermag. Der Angriffspunkt des Schilddrüsenhormons ist das periphere Gewebe; hier kommt es zu einer Steigerung des Stoffumsatzes, beschleunigter Einschmelzung der Larvenorgane, worin nach Jarisch[50]) die mittelbare Bedeutung der Entwicklungsförderung besteht.

Aus der Zusammenstellung in Tabelle 2 geht hervor, daß die Auslösung oder Beschleunigung der Larvenmetamorphose eine Funktion

Tabelle 2.

Endokrine Drüse bzw. Inkret:	Einwirkung auf die Metamorphose der Amph.-Larven	Einwirkung auf den Stoffwechsel	Einwirkung auf das vegetative Nervensystem
Thyreoidea bzw. jodhaltige Schilddrüsenpräparate	Vorzeitige und beschleunigte Metamorphose bei Stillstand d. Wachstums	dissimilator.	sympathicotrop erregend
Nebennieren-Mark	Verstärkung der Schilddrüsenwirkg.	dissimilator.	sympathicotrop erregend
Hypophyse	Verstärkung der Schilddrüsenwirkg.	dissimilator.	sympathicotrop Erregbarkeit steigernd
Thymus	Hemmung der natürlichen und der durch Schilddrüsenwirkung erzeugten Metamorphose	assimilator.	parasympathicotrop erregend
Parathyreoidea Antithyreoidin ?	Wie Thymusinkret.	?	parasympathicotrop ?
Pankreasinseln	Hemmung der Schilddrüsenwirkg.	assimilator.	parasympathicotrop erregend
Nebennieren-Rinde	Hemmung der durch Schilddrüse bewirkten Metamorphose	assimilator.	parasympathicotrop erregend

[49]) Biedl: Innere Sekretion, III. Aufl., Bd. **1**, S. 177.
[50]) Pflüg. Arch., Bd. **149**, 4—6.

dissimilatorisch, dagegen die Hemmung der Metamorphose eine Funktion assimilatorisch wirksamer Hormone ist.

Im nicht der Metamorphose unterliegenden Larvenorganismus herrscht bezüglich der dissimilatorischen und assimilatorischen Komponenten der Hormonwirkung Gleichgewicht. Eine Verschiebung desselben durch Zugabe von hormonalen Substanzen zugunsten einer gesteigerten Dissimilation bewirkt Beschleunigung der normalen oder der durch Schilddrüsenwirkung erzeugten Metamorphose; Auslösung der Metamorphose dagegen kann nur durch das Schilddrüsenhormon selbst bewirkt werden. Verschieben des Hormongleichgewichtes zugunsten einer gesteigerten Assimilation führt zur Hemmung bzw. zum Ausbleiben der Metamorphose.

In der Zusammenstellung wird auch die Wechselwirkung Hormon—vegetatives Nervensystem berücksichtigt. Danach wirken die die Metamorphose beschleunigenden Hormone sämtlich sympathicotrop erregend, die die Umwandlung hemmenden hingegen parasympathicotrop erregend. Nach dem, was oben über die nervöse Beeinflussung der Hormonproduktion gesagt wurde, würde die Wirkung von Muskarin und Pilokarpin auf eine gesteigerte Sekretion schilddrüsen-antagonistischer Hormone beruhen, hingegen die Wirkung des Atropins mit einer verminderten Sekretion der parasympathicotropen, die Metamorphose hemmenden Hormone erklärt sein. Im ersten Falle würde dann das hormonale Gleichgewicht zuungunsten, im anderen Falle zugunsten der Schilddrüsenwirkung verschoben sein.

Auch bei den nicht in der Metamorphose stehenden Kaulquappen, bei denen die Schilddrüsenfunktion nicht durch hormonale Zufuhr gesteigert ist, bewirkt das Atropin eine relative Verstärkung der die Metamorphose beschleunigenden Hormone; doch bleibt der dadurch geschaffene Reiz zu schwach, um den ruhenden Organismus der Larven zur Umwandlung zu bringen. Würden wir jedoch den in Metamorphose begriffenen Organismus, der über eine natürliche, jahreszeitlich und entwicklungsmechanisch bedingte Schilddrüsenhyperfunktion verfügt, atropinisieren, so müßte allerdings auch dann eine Beschleunigung der Schilddrüsenwirkung eintreten, was durch weitere Versuche festzustellen wäre.

Eine andere Erklärungsmöglichkeit, die den Schwerpunkt der neurohormonalen Korrelation in die peripheren Gewebe verlegt, bietet sich in der von S. G. Zondek[51]) aufgestellten Theorie von der Bedeutung der Ionenverteilung an dem Erfolgsorgan für die hormonale Wirkung. Danach sollen namentlich die Kalium- und Kalzium-Ionen in antagonistischer Weise die Hormonwirkung regulieren. S. G. Zondek konnte zeigen, daß die Ionenverteilung an der Zellmembran dem Einfluß des vegetativen Nervensystems untersteht, und zwar führt Sympathikusreiz zur $Ca^{\cdot\cdot}$-, Vagusreizung zur $K^{\cdot}$-Ionen-Anreicherung an der Zellmembran. Mit der Verschiebung der $Ca^{\cdot\cdot}$- und $K^{\cdot}$-Ionenkonzentration ist aber zwangsläufig eine Aenderung der H-Ionenkonzentration verbunden [F. Krause[52])], und zwar bewirkt

[51]) Klin. Wochenschrift **1923**, S. 382.
[52]) Klin. Wochenschrift **1922**, S. 1773.

$Ca^{\cdot\cdot}$-Anhäufung lokale Acidose, $K^{\cdot}$-Anhäufung lokale Alcalose. Um nun mittels dieser Theorie die Wirkung der parasympathicotropen Pharmaka zu erklären, müßte gefordert werden, daß $Ca^{\cdot\cdot}$-Anhäufung die Wirkung der metamorphosebeschleunigenden, $K^{\cdot}$-Anreicherung die der metamorphosehemmenden Hormone steigert.

Untersuchungen hierüber wurden angestellt von H. Zondek und Reiter[53]); diese Autoren prüften die Wirkung von Thyroxin und Thymustrockensubstanz auf Kaulquappen unter Anreicherung der Versuchsflüssigkeiten einmal mit $Ca^{\cdot\cdot}$ und das anderemal mit $K^{\cdot}$. Hierbei ergab sich nun in der Tat, daß die Thymuswirkung (hemmendes Hormon) durch $K^{\cdot}$ verstärkt und durch $Ca^{\cdot\cdot}$ abgeschwächt wurde. Doch wurde auch die Thyroxinwirkung in demselben Sinne beeinflußt, also durch $K^{\cdot}$ verstärkt und durch $Ca^{\cdot\cdot}$ abgeschwächt. Hier entsteht zwischen den Untersuchungen von H. Zondek und Reiter und meinen eigenen Ergebnissen ein Widerspruch, der der weiteren Klärung harrt.

Ich wies oben darauf hin, daß mit der $Ca^{\cdot\cdot}$-Anreicherung eine lokale Acidose verbunden sei. Nun haben die Untersuchungen von Zondek und Ucko[54]) gezeigt, daß die Schilddrüsenwirkung zunimmt mit abnehmender p_H, und daß sie bei alkalischer Reaktion dicht oberhalb des Neutralpunktes ($p_H = 7$) fast unwirksam wird. Diese Beobachtung würde dafür sprechen, daß die die Metamorphose beschleunigenden Hormone durch $Ca^{\cdot\cdot}$-Anreicherung verstärkt werden, weil diese ja zwangsläufig eine lokale Acidose erzeugt.

Endlich sei noch das Verhalten der Hormone zum vegetativen Nervensystem herangezogen. Wie wir oben sahen, wirken die die Metamorphose beschleunigenden Hormone sympathicotrop, die Antagonisten dagegen parasympathicotrop erregend. Die Thymuswirkung wird durch $K^{\cdot}$-Anreicherung, die ja auch durch parasympathischen Reiz zustandekommen kann, verstärkt. Es liegt für die Thyreoidea nun nahe, dem Sympathikusreiz und der damit verbundenen $Ca^{\cdot\cdot}$-Anhäufung eine Verstärkung der Hormonwirkung, andererseits dem Parasympathikusreiz via $K^{\cdot}$-Anreicherung eine Abschwächung der hormonalen Wirkung auf die Zelle zuzuschreiben.

Zusammenfassung.

1. Insulin („Gans") bewirkt eine Aufhebung bzw. Hemmung der durch Thyraden zu erzwingenden Metamorphose von Amphibienlarven (Bufo vulgaris, Alytes obstetricans).

2. Azetyl-Cholin wirkt in der gleichen Weise wie das Insulin hemmend auf die durch Thyraden zu erzwingende Metamorphose von Amphibienlarven (Alytes obstetricans).

53) Klin. Wochenschrift **1923**, 1344.
54) Klin. Wochenschrift **1924**, Heft 39.

3. Muskarin (1:250 000) und Pilokarpin (1:100 000) bewirken eine mäßige Hemmung der durch Thyraden zu erzwingenden Metamorphose von Amphibienlarven (Alytes obstetricans).

4. Atropin bewirkt (1:500 000—1:1 000 000) eine erhebliche Beschleunigung der durch Thyraden ausgelösten Metamorphose von Amphibienlarven.

5. Auf nicht unter Schilddrüsenwirkung stehende einjährige Alyteslarven ist das Atropin (1:500 000) im Herbst (außerhalb der normalen Entwicklungsperiode) ohne sichtbaren Einfluß.

6. Das Jodothyrin (Bayer) bewirkt in der gleichen Weise wie die bisher darauf geprüften jodhaltigen Schilddrüsenpräparate, und zwar im Herbst, vorzeitige Metamorphose einjähriger Alyteslarven.

Zum Schluß spreche ich Herrn Prof. Dr. med. et phil. et med. dent. h. c. Gürber für die Anregung zu den vorliegenden Untersuchungen sowie für die wertvollen Ratschläge bei der Ausführung der Arbeit meinen ergebensten Dank aus.

Lebenslauf

Ich wurde geboren am 15. April 1900 zu Elberfeld als Sohn des Realgymnasialzeichenlehrers a. D. Gustav Geßner und seiner Ehefrau Klara, geb. Ecke. Ich gehöre der lutherischen Konfession an. Meine Schulbildung erhielt ich in Elberfeld zunächst an der Bürgerschule drei Jahre und dann am Städtischen Realgymnasium, das ich am 18. Dezember 1917 mit dem Zeugnis der Reife verließ, um mich dem vaterl. Hilfsdienst zu widmen.

Anfang 1919 begann ich in Marburg das Studium der Medizin. Vorübergehend bezog ich im Wintersemester 1921/1922 die Universität Freiburg, um danach wieder nach Marburg zurückzukehren.

Die Vorprüfung bestand ich am 4. November 1920, das Staatsexamen am 7. Juni 1923; beide Prüfungen in Marburg.

Meine akademischen Lehrer waren in Marburg: v. Auwers, Berblinger, Bielschowsky, Bonhoff, Burckhardt, Freudenberg, Fuchs, Göppert, Grüter, Gürber, Hildebrandt, Hofmann, Kehl, Korschelt, Kutscher, Läwen, Löhlein, Meyer, E. Müller, Richarz, Ruete, Schenk, Schwenkenbecher, Siegmund, Stertz, Uffenorde, Zangemeister; in Freiburg: Aschoff, de la Camp, Gauß, Lexer, Opitz, Straub, v. Szilly.

Das praktische Jahr begann ich am 1. Juli 1923 am Städt. Tuberkulosekrankenhaus Hannover; am 1. Februar 1924 mußte ich krankheitshalber aussetzen und konnte es erst am 1. April 1925 fortsetzen an der Deutschen Heilstätte in Davos.

Seit dem 1. Oktober 1925 bin ich Assistenzarzt an der Heilstätte Luisenheim der Landesversicherungsanstalt Baden.

Während eines längeren Urlaubs im Sommer und Herbst 1926 führte ich die vorliegenden Untersuchungen im Pharmakologischen Institut der Universität Marburg aus.

Werner Geßner.

Münchener Druck- und Verlagshaus
G. m. b. H.
München, Paul Heysestraße 9 bis 13